

N-methyl-N'-nitrosoguanidine (MNNG) 注腸誘発ラット大腸癌における内因性プロスタグランディン E2 の検討

金沢大学医学部外科学第二講座 (主任: 宮崎逸夫教授)

石 田 哲 也

(平成4年11月18日受付)

大腸癌発生増殖とプロスタグランディン E2 との因果関係を究明する目的にて, N-methyl-N'-nitro-N-nitrosoguanidine (MNNG) 注腸誘発ラット大腸癌において, 内因性プロスタグランディン E2 を経時的に測定するとともに, プロスタグランディン合成阻害剤であるインドメサシン投与による腫瘍発生率および内因性プロスタグランディン E2 の変化を検索し, プロスタグランディンと大腸癌との関係を検討した. 実験動物はウィスター系雄性ラットを用い, MNNG は 1mg/ml を 1mg/ml ずつ 2 週間連日直腸内に投与し, MNNG 群とした. またさらに注腸投与初日より 0.005% インドメサシン加飼料を与えたものを Indo-MNNG 群とし, 両群において 5, 10, 20, 40 週における腫瘍発生率および直腸内の内因性プロスタグランディン E2 を経時的にみた. 腫瘍発生率をみると, コントロール群ではいずれの週においても腫瘍の発生はみられなかったのに対して, MNNG 群では注腸後 20 週 43.8%, 40 週 81.8% に大腸腫瘍の発生がみられた. 一方 Indo-MNNG 群では注腸後 20 週 5.3%, 40 週 27.8% と両週とも MNNG 群に比して腫瘍の発生率が有意に低率であった ($P < 0.01$). また 40 週における一匹あたりの腫瘍発生個数をみても MNNG 群の 2.18 個に対して, Indo-MNNG 群では 0.50 個と有意に少なかった ($p < 0.01$). 大腸粘膜のプロスタグランディンの定量はラジオイムノアッセイにておこなったが, 非癌部大腸粘膜におけるプロスタグランディン E2 量をみると, コントロール群では 5 週 23.9 (pg/mg total protein), 10 週 27.8, 20 週 33.2, 40 週 34.8 であったのに対して, MNNG 群における粘膜内の内因性プロスタグランディン E2 量は 5 週 44.7, 10 週 43.1, 20 週 70.1, 40 週 79.7 と肉眼的に発癌のみられない早期 (5 週, 10 週) より内因性プロスタグランディン E2 が有意に増加する傾向がみられた ($P < 0.05$). 一方 Indo-MNNG 群では 5 週 22.0, 10 週 29.0, 20 週 43.1, 40 週 40.6 と MNNG 群に比して有意に低下し ($p < 0.05$), コントロール群とほぼ同じ値を示した. 以上より MNNG 注腸誘発ラット大腸癌において, 内因性プロスタグランディン E2 が早期より高値を呈し, その合成阻害剤であるインドメサシンを投与することで低値となるとともに癌発生率を有意に抑制したことより内因性プロスタグランディン E2 は大腸癌発生に深く関与しプロモーターとして働くことが示唆された.

Key words MNNG-induced colonic cancer, carcinogenesis, prostaglandin E2, indomethacin

プロスタグランディンやロイコトリエンなどのアラキドン酸代謝物は体内のはほとんどあらゆる組織で生成され, 多彩な生理作用を発揮している. しかしながら, これらのプロスタグランディンは組織内には蓄積されず, 刺激に応じて生成, 即放出され, その作用を発揮することになる. 近年プロスタグランディンが種々の悪性腫瘍に関連することがいわれ, なかでも発癌や腫瘍増殖, 転移などとの間に密接な関係があることが推察されている^{1)~4)}. 大腸癌においても内因性プロスタグランディン E2 と発癌との関与が報告され, プロスタグランディンの拮抗剤であるインドメサシンの投与によりその発癌が抑制されるともいわれている^{5)~7)}.

一方化学発癌剤を用いる実験的発癌の研究によって, 発癌過程は, 大きく 2 段階よりなることが知られている⁸⁹⁾. 第 1 段階は, N-methyl-N'-nitro-N-nitrosoguanidine (MNNG) 等の発癌剤によるイニシエーションの過程であり, 第 2 段階はいわゆる発癌プロモーターによるプロモーションの過程で, このプロモ-

ーターの継続刺激によって発癌が成立するとされている. このプロモーションの過程でプロスタグランディン合成が強く惹起されることより, その産生されたプロスタグランディンが発癌促進因子の一部を担っていることが推察される. このプロスタグランディンがプロモーションの過程に深く関与しているならば, その合成阻害剤であるインドメサシンによって発癌過程は阻害されることとなる. 実際, マウスの皮膚モデルにおいて 7, 12-dimethylbenzanthracene および 12-O-tetradecanoylphorbol-13-acetate (TPA) 処理によって生じる皮膚腫瘍の発生は, インドメサシンによって有意に抑制されることが示されている¹⁾.

そこで今回私どもは, 1971 年 Narisawa ら¹⁰⁾によって確立された, ヒト大腸癌と類似したラット大腸癌を誘発する化学発癌物質 MNNG を用い, 直腸粘膜内プロスタグランディン E2 量の測定を経時的におこなうとともにインドメサシン投与による内因性プロスタグランディン E2 量の変化および腫瘍発生率を

Abbreviations: MNNG, N-methyl-N'-nitro-N-nitrosoguanidine; ODC, ornithine decarboxylase; TPA, 12-O-tetradecanoylphorbol-13-acetate

検索することにより大腸発癌とプロスタグランディン E2 との関係を検討した。

材料および方法

I. 実験動物と腫瘍誘発

実験動物は、オリエンタル固形飼料および水道水で飼育された、7週令、体重 200g 前後のウィスター系雄性ラットを用いた。室温25℃湿度55%前後、11時間照明の条件下で飼育した。MNNG (N-methyl-N'-nitro-N-nitrosoguanidine, Aldrich Chemical Company, Inc. MILWAUKEE, USA) を使用1時間前に遮光瓶中で蒸留水に溶解し 1mg/1ml の濃度とし、発癌剤として使用した。

図1に示すように実験群としては蒸留水 1ml/day を14日間注腸投与したコントロール群、MNNG 1mg/1ml/day を連日14日間注腸投与した MNNG 群、MNNG 1mg/1ml/day を14日間注腸投与し、さらに MNNG 投与日より0.005%インドメサシン加固形飼料を経口摂取させた Indo-MNNG 群の3群を設定した。

なお蒸留水および MNNG の直腸内への投与には、アトムチューブ6号 (ATOM Disposable Multi Purposes Tube, アトム株式会社、東京) を用い、そのチューブを肛門より7cm 挿入した状態で注入した。各群とも、注腸投与開始後5週、10週、20週、40週にインドメサシンリンス液を注腸投与した後に屠殺した。

II. 体重測定

各群のラットとも注腸投与終了後より5週間毎に体重測定をおこない、その数値は各群の平均値をもって表した。

III. 大腸癌判定基準

各群とも5、10、20、40週で屠殺時摘出した大腸において肉眼的に隆起性病変として観察されたものを腫瘍とし、組織学的な癌の判定はヒト大腸癌の判定に従った¹²⁾。

IV. 腫瘍発生率

各群、各週において屠殺剖検したラット匹数を有効匹数とし、大腸に腫瘍を認めた匹数の割合を腫瘍発生率とした。

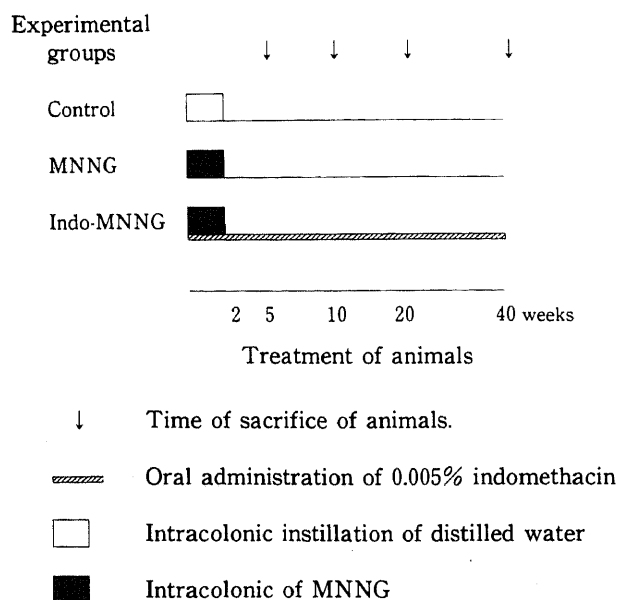


Fig. 1. Experimental design.

V. 大腸粘膜内プロスタグランディンの測定方法

各群とも注腸開始後5、10、20、40週にインドメサシンリンス液を大腸内に注腸投与した後屠殺し、すみやかに遠位大腸を取り出しインドメサシンリンス液で洗浄し、腫瘍発生状況を検索し、さらに腸管1cmを凍結下粘膜剥離法¹³⁾にて採取した。この採取された非癌部粘膜はプロスタグランディン測定時まで-80℃で乾燥凍結保存した。インドメサシンリンス液は、使用2時間前に、20mMの重炭酸ナトリウム水溶液にインドメサシン (SIGMA Chemical Company, St. Louis, USA) を0.001Mに溶解し、冷所保存したものを用いた。

凍結した粘膜は超高速ホモジナイザー (Polytron, Kinematica 社, Luzern, Switzerland) を用いて0.5Mリン酸緩衝液 (pH6.8) を含む95%エタノール2mlで氷冷下にホモジネートした。遠心分離後 (3000回転, 30分), 上清にさらに95%エタノール2mlを加え、20分間振とうした。遠心分離後上清に1N塩酸をくわえpH3.0とした後で、octadecylsilyl silica 懸濁液を加え10分間振とうし、さらに遠心分離 (3000回転, 5分) をおこなった。その沈殿物を15%エタノール、石油エーテルにて除蛋白、脱脂をおこない、酢酸エチルで抽出した。上清よりケイ酸カラムを用いて組織内プロスタグランディンの分画を得た。定量はラジオイムノアッセイキットによりおこなった。また、プロスタグランジン抽出の際、95%エタノールにてホモジネートした際にえられた沈殿を用いて、ローリー法による蛋白定量を行い、組織内プロスタグランジン E2 量を蛋白1mgあたりの値として算出した。

IV. 統計学的検定法

百分率の検定は χ^2 検定を、平均値の検定はStudentのt分布を用いて行い、5%未満の危険率をもって有意とした。

成 績

I. 体 重

MNNG投与時より40週のと殺まで両群間で体重の推移に有意な差はみられず、またコントロール群の体重推移とも差はみられなかった。(図2)

II. 大腸腫瘍発生率

コントロール群においては、5週、10週、20週、40週と実験期間中に大腸内に肉眼的に腫瘍の発生はみられなかった。

MNNG群においては、5週ないし10週では肉眼的に腫瘍の発生を見なかったが、20週では32匹中14匹 (43.8%)、40週では33匹中27匹 (81.8%) と高率に遠位大腸に腫瘍の発生をみた。一方 Indo-MNNG 群における腫瘍の発生率をみると、5週および10週では0%、20週では19匹中1匹 (5.3%)、40週では18匹中5匹 (27.8%) と、MNNG群に対し20週、40週において腫瘍発生率が有意に抑制された ($p < 0.01$) (表1, 2)。

III. 腫瘍発生個数

MNNG群での腫瘍発生個数は20週で20個、1匹あたり0.63±83個、40週で72個、1匹あたり2.18±1.47個であった。一方 Indo-MNNG 群では20週で1個、1匹あたり0.05±0.02個、40週で9個、1匹あたり0.50±0.92個とともに MNNG 群に比して、腫瘍発生個数が有意に減少した (表3, 4)。

IV. 腫瘍の肉眼形態

各実験群にて発生した腫瘍の肉眼型はすべて隆起型であり、MNNG群と Indo-MNNG 群との間に差はみられなかった。

V. 癌腫発生率と組織学的検索

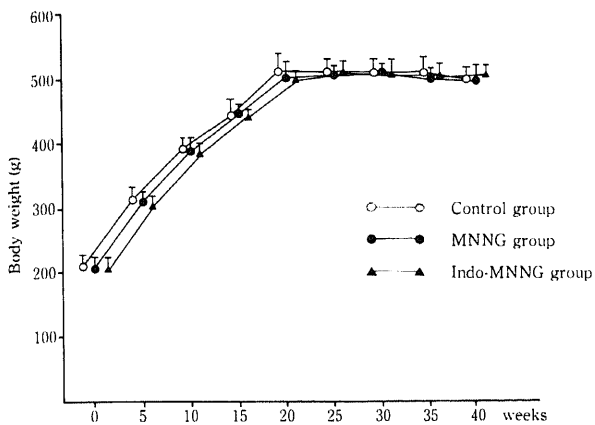


Fig. 2. Effect of the administration of MNNG and MNNG plus indomethacin on the body weight at experimental animals. The body weight of individual animals of each experimental group was measured at a 5-week interval after the final colonic administration of drugs. No significant difference of animals in the body weight was observed among control groups, MNNG groups, and Indo-MNNG groups.

癌種発生率をみても MNNG 群では20週32匹中10匹 (31.3%), 40週33匹中24匹 (72.7%) であったのに対して, Indo-MNNG 群では20週19匹中1匹 (5.3%), 40週18匹中4匹 (22.2%) と有意に低率であった (表1, 2). またその組織学的所見はすべて中ないし高分化腺癌で両群間に差はみられなかった (図3, 4).

また, 非癌部粘膜の組織学的検索ではともに炎症性細胞の浸潤像はほとんどみられず3群間に組織学的な差はみられなかった. さらに, Indo-MNNG 群の胃粘膜にも胃潰瘍等の変化を認めなかった.

VI. 大腸組織内プロスタグランディン E2 量の変化

非癌部における内因性プロスタグランディン E2 量の経時的変化をみると, コントロール群では5週 23.9 ± 13.2 pg/蛋白 mg, 10週 27.8 ± 11.8 , 20週 33.2 ± 27.2 , 40週 34.8 ± 12.7 と加齢とともにやや増加する傾向がみられた. これに対し MNNG 群では5週 44.7 ± 26.2 , 10週 43.1 ± 14.9 , 20週 70.1 ± 23.4 , 40週 79.7 ± 54.1 と徐々に大腸粘膜内プロスタグランディン E2 量の増加がみられ, コントロール群に比して MNNG 注

Table 1. Colonic tumor incidence in MNNG group and Indo-MNNG group (20 weeks after instillation of MNNG)

Group	No. of rats	No. of rats with neoplasms (%)	No. of rats with carcinomas (%)
MNNG	32	14 (43.8)	10 (31.3)
Indo-MNNG	19	1 (5.3)	1 (5.3)

* $P < 0.01$

Table 2. Colonic tumor incidence in MNNG group and Indo-MNNG group (40 weeks after instillation of MNNG)

Group	No. of rats	No. of rats with neoplasms (%)	No. of rats with carcinomas (%)
MNNG	33	27 (81.8)	24 (72.7)
Indo-MNNG	18	5 (27.8)	4 (22.2)

* $P < 0.01$

Table 3. Number of tumors in MNNG group and Indo-MNNG group (20 weeks after instillation of MNNG)

Group	No. of rats	No. of neoplasms	No. of neoplasms in a rat
MNNG	32	20	$0.63 \pm 0.83^{\bullet}$
Indo-MNNG	19	1	0.05 ± 0.02

\bullet mean \pm S. D.

* $P < 0.01$

Table 4. Number of tumors in MNNG group and Indo-MNNG group (40 weeks after instillation of MNNG)

Group	No. of rats	No. of neoplasms	No. of neoplasms in a rat
MNNG	33	72	$2.18 \pm 1.47^{\bullet}$
Indo-MNNG	18	9	0.50 ± 0.92

\bullet mean \pm S. D.

* $P < 0.01$

腸投与群では投与早期(5週)より大腸内の内因性プロスタグランディン E2 量が増加し、いずれの週においても有意な高値を示した ($p<0.05$)。また、MNNG 群において組織内プロスタグランディン E2 量は腫瘍発生を見る20週では10週に比して有意な増加を示した ($p<0.05$)。

この大腸内の内因性プロスタグランディン E2 量の増加は、インドメサシンを経口投与することにより有意に ($p<0.05$) 抑えられ、Indo-MNNG 群での内因性プロスタグランディン E2 量は5週 22.0 ± 10.1 , 10週 29.0 ± 14.6 , 20週 43.1 ± 26.5 , 40週 40.6 ± 25.3 とコントロール群と近似あるいは軽度増加の値を示した (表5, 6, 7, 8)。

考 察

近年、日本において大腸癌の発生頻度が増加する傾向にあり、その原因として食生活の欧米化による脂肪摂取量の増加が指摘されている^{13)~16)}。Wynder¹⁷⁾は動物性脂肪消費量の増加と大腸癌発生率増加に相関がみられることを明らかにした。この脂肪摂取量の増加は、一次胆汁酸の生成促進を促し、それが腸内細菌の持つ酵素により二次胆汁酸に変換されるが、この二次胆汁酸が大腸癌発生に促進的に作用させるとされている。胆汁酸と大腸癌に関する実験的研究も多くみられ、片山¹⁸⁾は MNNG 誘発大腸癌において胆汁酸特に二次胆汁酸が発癌の促

進因子として重要であることを証明した。このように現在大腸癌発生に関する内的環境因子としては胆汁酸および腸内細菌叢が重要視されている。

一方悪性腫瘍が各種のプロスタグランディンを産生することが知られ^{19)~22)}、さらにそのプロスタグランディンは腫瘍発生の促進因子として、腫瘍の増殖および転移などに大きく関与することも報告されてきている^{1)~4)}。大腸癌においても、プロスタグランディンなかでもプロスタグランディン E2 が発癌過程における促進因子として重要な働きを示し、腫瘍発生に大きく関与していることが指摘されつつある。1974年 Jaffe ら²³⁾は大腸癌培養細胞がプロスタグランディンを正常細胞より多く産生し、そのプロスタグランディンは腫瘍細胞の増殖に重要な働きを示すことを報告した。マウスの皮膚発癌実験において、発癌促進因子である 12-O-tetradecanoyl-phorbol-13-acetate がプロスタグランディンの産生を誘導し、このプロスタグランディンが ornithine decarboxylase (ODC) 活性の誘導に重要な役割を演じていると報告されている¹⁾。ODC は増殖に必須とされるポリア



Fig. 3. Low-power view of a MNNG-induced colonic carcinoma. The microscopic appearance indicate carcinoma of a elevated type. (HE stain, $\times 40$)

Table 5. The PGE₂ levels of the colonic mucosa in control, MNNG, and Indo-MNNG group (5 weeks after instillation of MNNG)

Group	No. of rats	Prostaglandin E ₂ (pg/mg total protein)
Control	10	23.9 ± 13.2
MNNG	8	44.7 ± 26.2
Indo-MNNG	7	22.0 ± 10.1

The figures are expressed as mean \pm S. D.
** $P<0.05$

Table 6. The PGE₂ levels of the colonic mucosa in control, MNNG, and Indo-MNNG group (10 weeks after instillation of MNNG)

Group	No. of rats	Prostaglandin E ₂ (pg/mg total protein)
Control	10	27.8 ± 11.8
MNNG	8	43.1 ± 14.9
Indo-MNNG	7	29.0 ± 14.6

The figures are expressed as mean \pm S. D.
** $P<0.05$

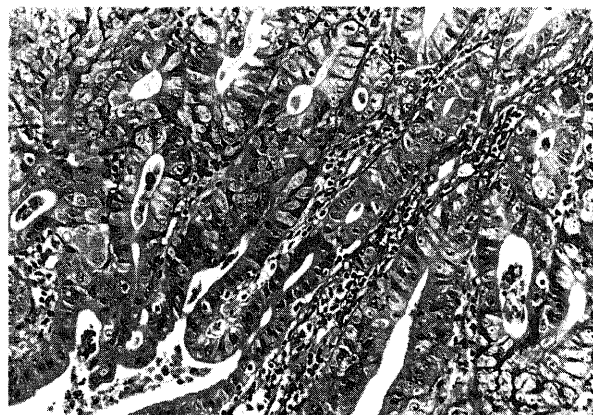


Fig. 4. Histology of MNNG-induced colonic carcinoma. Histological appearance shows a well differentiated adenocarcinoma. (HE stain, $\times 400$)

Table 7. The PGE₂ levels of the colonic mucosa in control, MNNG, and Indo-MNNG group (20 weeks after instillation of MNNG)

Group	No. of rats	Prostaglandin E ₂ (pg/mg total protein)
Control	10	33.2 ± 27.2
MNNG	10	70.1 ± 23.4
Indo-MNNG	9	43.1 ± 26.5

The figures are expressed as mean \pm S. D.
** $P<0.05$

Table 8. The PGE₂ levels of the colonic mucosa in control, MNNG, and Indo-MNNG group (40 weeks after instillation of MNNG)

Group	No. of rats	Prostaglandin E ₂ (pg/mg total protein)
Control	9	34.8 ± 12.7
MNNG	8	79.9 ± 54.1
Indo-MNNG	10	40.6 ± 25.3

The figures are expressed as mean \pm S. D.
** $P<0.05$

ミンの合成に関与する酵素であり²⁴⁾、それは発癌のプロモーション期に著名に増加し、その活性亢進が発癌プロモーションの指標となると考えられている。

ところでプロスタグランディン E2 自体には直接的な細胞増殖抑制効果があり生体外 (in vitro) においては内因性、外因性プロスタグランディン E2 が腫瘍の増殖を阻害するとの報告もみられる³⁾。これはプロスタグランディン E が細胞膜内のアデニール酸シクラーゼを活性化し、細胞内 cAMP が増量することによるとされている²⁵⁾。しかし逆に生体内 (in vivo) では腫瘍細胞がプロスタグランディン E2 を産生することにより宿主の免疫能を低下させ、自らの増殖を促進するといわれている。その免疫に関するプロスタグランディン E2 の作用としてはリンフォカイン分泌抑制作用、サプレッサー T 細胞活性化作用および NK 活性の抑制などが報告されている^{26)~28)}。外因性プロスタグランディンの投与にて、脾臓の NK 活性の低下や ODC 活性が増強するといわれているが、一方ではインドメサシンの併用にて免疫能の回復や、ODC 活性の正常化が報告されている^{29,30)}。以上より内因性プロスタグランディン E2 は ODC 活性をたかめるとともに、直接および間接的に免疫抑制を行うことにより、大腸癌発癌のプロモーターとして働いていると考えられる。またプロスタグランディン E2 は血管新生作用を有することがしられ、腫瘍血管新生を促進することにより、腫瘍増殖がもたらされているという報告もみられている³¹⁾。つまりプロスタグランディン E2 は腫瘍発癌のプロモーターとして発癌の早期に重要な役割を示すことが想像される。

そこで今回、MNNG 誘発ラット大腸癌において、大腸粘膜内のプロスタグランディン E2 を経時的に測定することにより大腸癌発癌とプロスタグランディン E2 との関係を検討した。コントロール群では加齢とともに内因性プロスタグランディン E2 量がやや増加する傾向にあった。そして、MNNG 群ではコントロール群に比していずれの時期においても大腸粘膜内プロスタグランディン E2 量が多くみられた。特にいまだ腫瘍の発生のみられない 5、10週の早期においてすでに内因性プロスタグランディン E2 の有意な増加が直腸粘膜内に認められた。MNNG の発癌機序は DNA と反応することによるメチル化からの突然変異、あるいはヒストン、チトクローム C や DNA ポリメラーゼなどの塩基性蛋白と結合し、ニトロアミジン化からの分化の異常を引き起こすためといわれている³²⁾。早川ら²³⁾は MNNG 注腸投与により、2-3 週後にびらんが、10週目以降に隆起性病変がみられ、20週以降で腺腫や癌が生じて来ると報告している。つまり、まだ腫瘍が発生してこない MNNG 注腸投与後 10週で内因性プロスタグランディン E2 の増加がみられたことより、発癌により生じた腫瘍よりプロスタグランディン E2 が産生され増加したものではなく、前癌状態においてすでに大腸粘膜内のプロスタグランディン E2 が増加することを証明するものである。さらには、脂肪酸 cyclooxygenase 活性を阻害してプロスタグランディン E2 の合成を阻害するインドメサシンを投与することによって、内因性プロスタグランディン E2 量は MNNG 群に比して有意に低下し、コントロール群と近似あるいは軽度増加の値となった。腫瘍発生率は MNNG 群で 20週 43.8%、40週 81.8%であったのに対して、インドメサシンを投与した群では各々 5.3%、27.8%とその腫瘍発生率が有意に低下した。また腫瘍個数をみてもインドメサシン投与により、腫瘍発生個数の有意な減少が認められた。これは、プロス

タグランディン E2 が大腸発癌、特にプロモーターとして重要な役割を果たしていることを証明するものであり、またインドメサシンはそのプロモーションの過程を遮断することにより、発癌を抑制したことを示している。

Waddell ら³⁴⁾は、家族性大腸腺腫症例に、インドメサシンと同じ indol 酢酸系非ステロイド抗炎症剤 sulindac を長期間内服投与したところ、多数の腺腫性ポリープが消失した新しいポリープの発生を認めなかったことを報告している。大腸腺腫が大腸癌の前段階である事はよく知られていることであり、従って sulindac あるいはその類似物質がある種の大腸癌の発生を予防する可能性があることが推察される。今回の実験の結果はこの Waddell らの報告を支持するものと思われる。このようにインドメサシンの抗腫瘍抑制作用としては低下した免疫能の賦活化、ODC 活性の抑制および血管新生因子の抑制などが考えられる。また山下ら³⁵⁾はラット azoxymethane 誘発大腸腺腫において外因性プロスタグランディン E2 投与は局所および全身の免疫能低下をきたし、腫瘍増殖を促進するが、その促進効果はインドメサシンの同時投与により抑制されたとし、インドメサシンが大腸腺腫症に対する早期治療として有用であることを報告している。しかし Tanaka ら³⁶⁾はマウス皮下移植大腸腺癌モデルにおいて、インドメサシンは移植後早期の腫瘍増殖は抑制したが、進行した後期にはむしろ腫瘍増殖促進作用を示したと報告している。また佐藤ら³⁷⁾は同様に一端増殖を開始した時期の腫瘍に対しては、インドメサシンの効果は少ないと述べている。このようにインドメサシンは免疫を介した腫瘍増殖抑制に働くのみならず、腫瘍増殖に対する直接的な関与も考えられ、その治療への応用には解明すべき問題点も多いと思われる。

結 論

MNNG 注腸投与によりラットに大腸癌を誘発し経時的に大腸粘膜内プロスタグランディン E2 量を測定した。また、プロスタグランディン合成阻害剤であるインドメサシンを経口投与し腫瘍発生率および内因性プロスタグランディン E2 量の変化を検討した。

1. MNNG 群および Indo-MNNG 群の体重推移はコントロール群に比して差は認められなかった。

2. コントロール群において腫瘍の発生はみられなかったが、MNNG 群の腫瘍の発生率および癌発生率は 20週で 43.8%、31.3%、40週で 81.8%、72.7%であった。一方 Indo-MNNG 群における腫瘍および癌発生率は、20週で 5.3%、5.3%、40週で 27.8%、22.2%とともに、MNNG 群に比し 20週、40週において有意に低率で、インドメサシンによる腫瘍発生の抑制が認められた。

3. 得られた腫瘍の一匹あたりの発生個数をみると、MNNG 群では 20週 0.63個、40週 2.18個であったのに対して、Indo-MNNG 群では 20週 0.05個、40週 0.50個とともに有意に減少した。

4. 腫瘍の肉眼形態および組織型には両群間に差はみられなかった。

5. 非癌部における大腸粘膜内平均プロスタグランディン E2 量はコントロール群で 5週 23.9pg/蛋白mg、10週 27.8、20週 33.2、40週 34.8であったのに対して、MNNG 群では 5週 44.7、10週 43.1、20週 70.1、40週 79.7といずれの週においても

有意に増加していた。一方 Indo-MNNG 群では20週22.1, 10週29.0, 20週43.1, 40週40.6と MNNG 群に比して有意に大腸粘膜内プロスタグランディン E2 量の低下がみられた。

以上より内因性プロスタグランディン E2 は大腸発癌の早期にプロモーターとして深く関与し、インドメサシンの投与は内因性プロスタグランディン E2 の抑制を介して腫瘍発生抑制に作用すると考えられる。

謝 辞

稿を終るに臨み、終始御懇篤なる御指導と御校閲を賜った恩師宮崎逸夫教授に深甚なる謝意を捧げます。また、終始御助言、御支援をいただいた福井医科大学第一外科山口明夫助教授に深謝致しますとともに、本研究に御協力いただいた教職員各位に深甚の謝意を表します。

本論文の要旨は The 8th International Society of University Colon and Rectum Surgeons (1990, Graz) および第91回日本外科学会総会 (1991, 京都) において発表した。

文 献

- 1) Verma, A. K., Ashendl, C. L. & Boutwell, R. K.: Inhibition by prostaglandin synthesis inhibitor of the induction of epidermal ornithine decarboxylase activity, the accumulation of prostaglandins, and tumor promotion caused by 12-O-tetradecanoylphorbol-13-acetate. *Cancer Res.*, **40**, 308-315 (1980).
- 2) Thomas, D. R., Philpott, G. W. & Jaffe, B. M.: the relationship between concentration of prostaglandin E and rate of cell replication. *Exp. Cell Res.*, **84**, 40-46 (1974).
- 3) Santoro, M. G., Philpott, G. W. & Jaffe, B. M.: Inhibition of tumor growth in vivo and in vitro by prostaglandin E. *Nature*, **263**, 777-779 (1976).
- 4) Fulton, A. M. & Heppner, G. H.: Relationships of prostaglandin E and natural killer sensitivity to metastatic potential in murine mammary adenocarcinomas. *Cancer Res.*, **45**, 4479-4484 (1985).
- 5) Kudo, T., Narisawa, T. & Abo, S.: Anyitumor activity of indomethacin on methylazoxymethanol-induced large bowel tumors in rats. *Jpn. J. Cancer Res.*, **71**, 503-511 (1978).
- 6) Narisawa, T., Sato, M., Tani, M., Takahashi, T., Kudo, T. & Goto, A.: Inhibition of development of methylnitrosourea-induced rat colon tumors by indomethacin treatment. *Cancer Res.*, **41**, 1954-1957 (1981).
- 7) Pollard, M. & Luckert, P. H.: Effect of indomethacin on intestinal tumors induced in rats by the acetate derivative of dimethylnitrosaurine. *Science*, **24**, 558-559 (1981).
- 8) Miller, E. C. & Miller, J. A.: Mechanism of chemical carcinogenesis. *Cancer*, **47**, 1055-1064 (1981).
- 9) Sugimura, T.: Mutagens, carcinogens and tumor promotes in our daily food. *Cancer*, **49**, 1970-1984 (1982).
- 10) Narisawa, T., Sato, T., Hayakawa, M., Sakuma, A. & Nakano, H.: Carcinoma of the colon and rectum of the rats by rectal infusion of N-methyl-N'-nitro-N-nitrosoguanidine. *GANN*, **62**, 231-234 (1971).
- 11) 荒川哲夫: ラット胃粘膜 prostaglandin E2 に関する研究 (第1報) -測定法の確立と非ステロイド系炎症剤による影響に

ついて-。日消誌, **77**, 1052-1059 (1980).

- 12) 大腸癌研究会編: 臨床・病理大腸癌取扱規約, 第3版, 33-66頁, 金原出版, 東京, 1983.
- 13) Haenszel, W., Berg, J. W., Segi, M., Kurihara, M. & Locke, F. B.: Large-bowel cancer in Hawaiian Japanese. *J. Natl. Cancer Inst.*, **51**, 1765-1779 (1973).
- 14) Graham, S., Dayal, H., Swanson, B. A., Mittelman, A. & Wilkinson, G.: Diet in the epidemiology of cancer of the colon and rectum. *J. Natl. Cancer Inst.*, **61**, 709-714 (1978).
- 15) Reddy, B. S., Hedges, A. R., Laakso, K. & Wynder, E. L.: Metabolic epidemiology of large bowel cancer. *Cancer*, **42**, 2832-2838 (1978).
- 16) Miller, A. B., Howe, G. R., Jain, M., Craib, K. J. P. & Harrison, L.: Food items and food groups as risk factors in a case-control study of diet and colo-rectal cancer. *Int. J. Cancer*, **32**, 155-161 (1983).
- 17) Wynder, E. L.: The epidemiology of large bowel cancer. *Cancer Res.*, **35**, 3388-3394 (1975).
- 18) 片山外一: 大腸癌発生増殖に及ぼす胆汁酸の影響に関する実験的研究。十全医会誌, **91**, 452-472 (1982).
- 19) Bennett, A., Tacca, M. D., Stamford, I. F. & Zebro, T.: Prostaglandins from tumours of human large bowel. *Br. J. Cancer*, **35**, 881-884 (1977).
- 20) Rolland, P. H., Martin, P. M., Jacoquemier, J., Rolland, A. M. & Toga, M.: Prostaglandin in human breast cancer: evidence suggesting that an elevated prostaglandin production is a marker of high metastatic potential for neoplastic cells. *J. Natl. Cancer Inst.*, **64**, 1061-1070 (1980).
- 21) Young, M. R. & Knie, S.: Prostaglandin E production by Lewis lung carcinoma: mechanism for tumor establishment in vivo. *J. Natl. Cancer Inst.*, **72**, 919-922 (1984).
- 22) Mahan, M., Meunier, J., Newby, M. & Young, M. R.: Prostaglandin E2 production by EL4 leukemia cells from C57BL/6 mice: mechanism for tumor dissemination. *J. Natl. Cancer Inst.*, **74**, 191-195 (1985).
- 23) Jaffe, B. M., Parker, C. W. & Philpott, G. W.: Immunochemical measurement of prostaglandin or prostaglandin-like activity from normal and neoplastic cultured tissue. *Surg. Forum*, **22**, 90-92 (1971).
- 24) Pegg, A. E. & McCann, P. P.: Polyamine metabolism and function. *Am. J. Physiol.*, **243**, 212-221 (1982).
- 25) Claesson, H. E., Lindgren, J. A. & Hammarstrom, S.: Endogenous sprostaglandin E2 production inhibits proliferation of polyoma virus-transformed 3T3 cells: correlation with cellular levels of cyclic AMP. *Adv. Prostaglandin Thromboxane Leukotriene Res.*, **6**, 541-545 (1980).
- 26) Gordon, D., Bray, M. A. & Mprley, J. M.: Control of lymphokine secretion by prostaglandins. *Nature*, **262**, 401-402 (1976).
- 27) Fischer, A., Durandy, A. & Grischellic, C.: Role of prostaglandin E2 in the induction of nonspecific T lymphocyte suppressor activity. *J. Immunol.*, **126**, 1452-1455 (1981).

- 28) Brunda, M. J., Herberman, R. B. & Holden, H. T.: Inhibition of murine natural killer cell activity by prostaglandins. *J. Immunol.*, 124, 2682-2687 (1980).
- 29) Graci, E., Mastino, A., Jezzi, T., Riccardi, C. & Favalli, C.: Effect of in vivo administration of prostaglandins and in interferon on natural killer activity and on B-16 melanoma growth in mice. *Cell Immunol.*, 106, 43-52 (1987).
- 30) Narisawa, T., Takahashi, M., Miwa, M., Fukaura, Y. & Wakizawa, A.: Involvement of prostaglandin E₂ in bile acid-caused promotion of colon carcinogenesis and antipromotion by cyclooxygenase inhibitor indomethacin. *Jpn. J. Cancer Res.*, 78, 791-798 (1987).
- 31) Form, D. M. & Auerbach, R.: PGE₂ and angiogenesis. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, 172, 214-218 (1983).
- 32) 齊藤貴生, 杉村 隆: ニトロソグアニジンによる実験胃癌研究の進歩. *癌の臨床*, 16, 503-512 (1970).
- 33) 早川 勝, 佐藤千城, 小野寺紘一, 渡辺忠信: 大腸の隆起性病変と大腸癌. *手術*, 27, 571-576 (1983).
- 34) Waddell, W. R. & Loughrey, R. W.: Sulindac for polyposis of the colon. *J. Surg. Oncol.*, 24, 83-87 (1983).
- 35) 山下 巖, 田沢賢次, 藤巻雅夫: ラット azoxymethane 誘発実験大腸腫瘍発現および増殖に対するインドメタシンおよびプロスタグランジン E₂ 経直腸投与の効果. *日消誌*, 86, 1438-1447 (1989).
- 36) Tanaka, Y., Tanaka, T. & Ishitsuka, H.: Antitumor activity of indomethacin in mice bearing advanced colon 26 carcinoma co-moored with early transplant. *Cancer Res.*, 49, 5935-5939 (1989).
- 37) 佐藤 真: プロスタグランジン合成阻害剤インドメタシンによる大腸癌治療の実験的研究. *秋田医学誌*, 9, 455-467 (1983).

Colonic Prostaglandin E₂ in Carcinogenesis in Rats by N-Methyl-N'-Nitrosoguanidine Tetsuya Ishida, Department of Surgery (II), School of Medicine, Kanazawa University, Kanazawa 920—*J. Jusen Med Soc.*, 101, 987—993 (1992)

Key words MNNG-induced colonic cancer, carcinogenesis, prostaglandin E₂, indomethacin

Abstract

The effects of prostaglandin E₂ and indomethacin on carcinogenesis were examined in male Wistar rats. Rats of the MNNG group were given 1ml of 0.1% distilled water solution of MNNG by intrarectal instillation every day for 14 days. The diet for rats of the Indo-MNNG group was supplemented with 0.005% indomethacin. Rats of the control group were given only 1ml distilled water via the anus. No tumor was found in the control group. Tumor incidence was 43.8% at 20 weeks and 81.8% at 40 weeks in the MNNG group. Tumor incidence was 5.3% at 20 weeks and 27.8% at 40 weeks in the Indo-MNNG group. The difference in tumor incidence between these two groups was significant ($p < 0.01$). The number of tumors in individual animals also decreased in the Indo-MNNG group (mean value 0.50 tumors per rat) compared with the MNNG group (2.18 tumors per rat). The content of PGE₂ in the colonic mucosa in a control group was 23.9 pg/mg total protein at 5 weeks, 27.8 at 10 weeks, 33.2 at 20 weeks, and 34.8 at 40 weeks. In the MNNG group, the content of PGE₂ in the colonic mucosa (pg/mg protein) was 44.7 at 5 weeks, 43.1 at 10 weeks, 70.1 at 20 weeks, and 79.7 at 40 weeks. Thus, the levels of intrinsic PGE₂ of the noncancerous mucosa was significantly higher in the MNNG group than in the control group throughout the time period tested. The content of mucosal PGE₂ significantly decreased in the Indo-MNNG group compared with the MNNG group; the mean value for the Indo-MNNG group was 22.0 at 5 weeks, 29.0 at 10 weeks, 43.1 at 20 weeks, and 40.6 at 40 weeks. It was indicated therefore that the PGE₂ of colonic mucosa tended to promote development and proliferation of colonic carcinomas in MNNG-treated rats.